

*Universidade Federal de Santa Catarina*  
*Centro de Ciências da Saúde*  
*Departamento de Clínica Cirúrgica*  
*Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental*

**ESTUDO DA VEIA SAFENA  
PRESERVADA EM GLUTARALDEÍDO  
COMO SUBSTITUTO VASCULAR**

---

*Florianópolis*  
*1995*

*Universidade Federal de Santa Catarina*  
*Centro de Ciências da Saúde*  
*Departamento de Clínica Cirúrgica*  
*Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental*

# **ESTUDO DA VEIA SAFENA PRESERVADA EM GLUTARALDEÍDO COMO SUBSTITUTO VASCULAR**

Trabalho de Graduação apresentado  
ao Curso de Medicina, Centro de  
Ciências da Saúde, Universidade  
Federal de Santa Catarina

*Aluno: Patrick Cardoso Candemil*  
*Orientador: Prof. Dr. Gilberto do Nascimento Galego*

---

*Florianópolis*  
*1995*

---

## **AGRADECIMENTOS:**

Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital Universitário

Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário

Serviço de Hemodinâmica do Hospital Universitário

Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina

# SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	iv
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	6
<b>3. MÉTODO</b> .....	7
3.1. Animais de Experimentação.....	7
3.2. Preparação das Próteses.....	7
3.3 Grupos de Animais.....	8
3.4. Anestesia.....	8
3.5. Técnica Cirúrgica.....	9
3.6 Protocolo de Acompanhamento.....	11
<b>4. RESULTADOS</b> .....	12
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	16
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	19
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	20

## RESUMO

Encontrar o substituto ideal para os vasos sanguíneos continua sendo um objetivo a ser alcançado. Os primeiros experimentos utilizando glutaraldeído (GA) foram executados por CARPENTIER<sup>4</sup> em 1968, com a finalidade de reduzir a antigenicidade de próteses valvares cardíacas porcinas. DARDIK<sup>12</sup> em 1976, demonstrou que veias umbilicais humanas, tratadas com GA, podem ser utilizadas para revascularização em pacientes com ameaça de perda de membros. O modelo experimental proposto tem por objetivo avaliar a veia safena humana, conservada em GA, como substituto vascular. Foram utilizados 10 cães da raça Beagle, divididos em 02 grupos, A e B, de 05 animais. As próteses foram preparadas segundo o método descrito por DARDIK e DARDIK<sup>12</sup> (1976), com algumas modificações propostas por ROBERTS<sup>34</sup> (1989). Utilizaram-se duas abordagens cirúrgicas. No grupo A, a prótese foi interposta na artéria femoral superficial e no grupo B, na carótida comum. A perviedade das próteses foi avaliada através de estudo arteriográfico realizado 90 dias após a implantação. Paralelamente foi realizado estudo histológico com microscopia óptica. No grupo A, todas as próteses estavam ocluídas. No grupo B foi realizado estudo angiográfico em apenas 02 animais, observando-se, oclusão dos enxertos. Na avaliação histológica não houve modificação da veia safena após o preparo com GA. Nas próteses analisadas, 90 dias após o implante, observou-se regiões com perda do endotélio. Conclui-se que o GA não provocou alterações histológicas significativas na veia safena e que esta demonstrou não ser um bom substituto vascular, devido ao alto índice de oclusões.

# 1. INTRODUÇÃO

Consideráveis esforços têm sido dispendidos na tentativa de desenvolver um substituto vascular que mantenha perviedade elevada quando utilizado em restaurações de vasos sanguíneos de pequeno diâmetro, resista a infecção, não sofra angulações, suporte a biodegradação, não desenvolva dilatações aneurismáticas e hiperplasia intimal ou subintimal. O mesmo material deve ser não reativo e livre de efeitos tóxicos, possuir baixo custo, ter boa manuseabilidade e ser disponível em vários tamanhos e diâmetros. Até o presente momento, não existe disponível material que possua todas, ou a maior parte, destas desejáveis características.

No princípio do século, em 1903, HOPFNER<sup>23</sup> descreveu pela primeira vez a utilização de uma artéria homóloga com o objetivo de proceder a reimplantação de um membro amputado. Iniciava-se a história dos transplantes de vasos sanguíneos.

CARREL<sup>5</sup>, em 1910, propôs o transplante de vasos, órgãos e membros. Sendo que, em 1912, recebeu o Prêmio Nobel de Medicina, em reconhecimento aos seus trabalhos sobre sutura vascular e transplante de órgãos.

O trabalho experimental de CARREL<sup>5</sup> não teve porém aplicação clínica imediata, devido a inexistência de alguns suportes que inviabilizavam a atuação da cirurgia arterial e que só apareceram mais tarde, como foi o caso das angiografias, transfusões sanguíneas, heparina, antibióticos e também os progressos da anestesia.

Apesar deste início promissor no começo do século, por um longo período a cirurgia vascular não evoluiu, devido principalmente à falta de métodos diagnósticos e de suporte ao paciente operado.

GROSS<sup>18</sup>, em 1948, utilizou uma aorta obtida de cadáver para corrigir cirurgicamente uma coarctação aórtica e este fato constitui o primeiro relato, bem sucedido, da utilização de homoenxerto na espécie humana. No ano seguinte, o mesmo autor<sup>17</sup>, publicou 15 casos de correção de coarctação de aorta e Tetralogia de Fallot mediante enxertos autólogos de aorta.

Em 1952, DEBAKEY e COOLEY<sup>13</sup>, nos Estados Unidos da América, realizaram com sucesso a ressecção de um aneurisma da aorta torácica, seguido da sua substituição por homoenxerto aórtico.

Os anos seguintes foram caracterizados por grande entusiasmo e expansão do novo método, e no final de 1955, acreditava-se que os homoenxertos arteriais eram os substitutos ideais para as artérias do homem. Todavia, esse período de consagração pouco tempo durou. Alguns autores <sup>7,13,43</sup>, demonstraram progressivamente, importantes alterações degenerativas sofridas por homoenxertos arteriais e que inviabilizavam o seu funcionamento. Oclusões precoces, dilatações aneurismáticas, roturas e calcificações extensas eram as expressões macroscópicas deste inadequado comportamento biológico, e por via destas alterações os homoenxertos foram rapidamente abandonados na prática clínica da época.

O desaparecimento dos homoenxertos e a necessidade de um substituto arterial adequado estimularam o início de uma nova era na cirurgia vascular, ou seja, a era das próteses sintéticas arteriais. Ao final da década de 50, vários materiais foram aprovados pela *Society for Vascular Surgery*, dentre eles o Dacron<sup>®</sup>, o Nylon<sup>®</sup> e o Teflon<sup>®</sup>.

Apesar destes progressos, as próteses sintéticas são acompanhadas de potenciais complicações, por vezes graves e de implicações vitais, como é o caso das infecções e formação de falsos aneurismas anastomóticos. Finalmente, os resultados obtidos na substituição de artérias de médio e pequeno diâmetro não têm sido satisfatórios, devido aos altos índices de oclusão que registram.

Outra linha de investigação foi reaberta por KIMOTO *et al*<sup>26</sup>, em 1954, que realizaram estudo experimental com enxertos arteriais homólogos e heterólogos preservados em álcool etílico. Novamente as prótese-biológicas voltavam a discussão.

ROSENBERG *et al*<sup>36</sup>, em 1956, executaram os primeiros experimentos utilizando formaldeído no tratamento de enxertos arteriais.

Em 1964, BORICK *et al*<sup>2</sup> ao procurarem um agente antimicrobiano que pudesse ser utilizado em instrumentos delicados, que não podiam ser esterelizados com o calor, demonstraram que solução aquosa alcalinizada de glutaraldeído tinha potente atividade bactericida, fungicida, esporicida e virucida.

CARPENTIER<sup>4</sup>, em 1968, utilizou pela primeira vez o glutaraldeído na preservação de material biológico, e reportou com sucesso o seu uso na preparação de próteses valvares cardíacas porcinas.

Em 1976, DARDIK<sup>12</sup> patenteou nos Estados Unidos um processo de produção de próteses tubulares para uso em cirurgia vascular reconstrutiva. O material era a veia do cordão umbilical humano conservada em glutaraldeído.

SHEIL *et al*<sup>39</sup>, em 1977, utilizaram veia safena humana removida de cadáveres, submetida a tratamento com enzimas digestivas proteolíticas e glutaraldeído, em 11 pacientes portadores de isquemia severa de membros inferiores. Sendo que, 09 pacientes permaneceram com membros íntegros entre 03 e 12 meses após a cirurgia. Com este trabalho, os autores concluíram que a veia safena após tratamento com glutaraldeído e enzimas digestivas é adequada para substituir vasos sanguíneos de pequeno diâmetro.

Ainda em 1977, PERLOFF *et al*<sup>33</sup> realizaram estudo experimental com segmentos de veia cava inferior de ratos, tratados com enzimas de digestão proteolítica e glutaraldeído, na tentativa de alterar a antigenicidade natural e aumentar a resistência dos enxertos.

MEHDORN *et al*<sup>31</sup>, em 1979, com o objetivo de verificar a origem da endotelização dos enxertos vasculares, implantaram artérias umbilicais humanas tratadas com glutaraldeído em carótidas de gatos.

Novamente DARDIK<sup>10</sup>, em 1980, reforçou o uso do glutaraldeído na preservação de veias umbilicais humanas, ao publicar trabalho com 361 revascularizações de membros inferiores, demonstrando que em casos bem selecionados e com boa técnica cirúrgica pode-se obter elevados índices de salvamento de membros.

Também em 1980, HARJULA *et al*<sup>20,21,22</sup> realizaram estudo em cães de rua, utilizando veias safenas e umbilicais humanas tratadas ou não com glutaraldeído, sendo avaliado a perviedade, morfologia, característica histológica e elasticidade dos enxertos.

GENDLER<sup>15</sup>, em 1984, executou estudo com o objetivo de quantificar e estabelecer o tempo de lavagem necessário para eliminar os efeitos citotóxicos do glutaraldeído, utilizando pericárdio bovino e válvulas cardíacas manufaturadas com este material.

Em 1985, KAPLAN *et al*<sup>24</sup>, também num estudo experimental, através de carótidas caninas fixadas em glutaraldeído, visavam desenvolver próteses biológicas de pequeno calibre para bypass coronariano.

ROBERTS *et al*<sup>34</sup>, em 1989, estudaram a eficácia de enxertos heterólogos microvasculares, conservados em glutaraldeído, e compararam com enxertos autógenos,



igualmente tratados com glutaraldeído. Os autores verificaram que veias coriônicas humanas, conservadas e implantadas em carótidas de coelhos mantinham 75% de perviedade em 04 semanas, enquanto que carótidas autógenas, implantadas em artéria femoral de coelhos, apresentavam uma perviedade de 50% no mesmo período.

WAGNER<sup>45</sup>, em 1990, realizou estudo experimental comparando a utilidade do glutaraldeído e da formalina no pré-tratamento da veia umbilical como substituto arterial, e demonstrou, através de análise angiográfica e histológica, que o preparo com glutaraldeído proporciona melhores resultados.

WENG *et al*<sup>46</sup>, também em 1990, implantaram em cães veias umbilicais humanas conservadas em glutaraldeído, sendo que todas as veias implantadas em artéria femoral e ilíaca trombosaram, enquanto que as interpostas em aorta abdominal apresentaram 75% de perviedade.

Na Argentina, em 1992, MARRAMA<sup>28</sup> realizou bypass com veia safena humana preservada em glutaraldeído em 15 pacientes que apresentavam ameaça de perda de membro e não possuíam veia safena adequada, apresentando índice elevado de salvamento de membros.

Ainda em 1992, MARQUES *et al*<sup>29</sup> através de artigo de revisão, demonstraram a técnica de preparação e preservação de tecidos pelo glutaraldeído e formaldeído. Descreveram com minúcias as etapas de preparação das substâncias e dos tecidos e comentaram sobre os cuidados na obtenção das peças e seu manuseio.

Em 1993, XU e CHEN<sup>44</sup>, implantaram veia umbilical tratada com glutaraldeído em aorta abdominal de cães, e usaram veia jugular autógena como controle. A perviedade após 06 meses foi de 95,2% para a veia jugular autógena e de 87,5% para a veia umbilical.

Embora todos estes estudos, e muitos outros, tenham sido de elevada relevância na área dos substitutos vasculares, encontrar o substituto ideal para os vasos sanguíneos continua sendo um objetivo a ser alcançado.

A veia safena é o substituto vascular de eleição para as revascularizações infragênicas, seja *in situ* ou invertida.

Segundo AXTHELM *et al*<sup>1</sup>, 20 a 30% de todos os pacientes não possuem veia safena adequada, quer por cirurgias prévias, como safenectomias, bypass aorto-coronário, bypass do setor fêmoro-poplíteo ou por enfermidades que impedem a utilização da mesma, como varicotromboflebitides ou varizes.

O uso de material sintético para o setor infragenicular não tem demonstrado resultados satisfatórios. A veia safena, preservada em glutaraldeído, apresenta-se como uma alternativa que atualmente vem sendo estudada e utilizada com maior frequência e bons resultados.

Este estudo experimental visa avaliar a utilização da veia safena humana, preservada em glutaraldeído, como substituto vascular, buscando assim um material que possa suprir as deficiências encontradas nas próteses sintéticas quando utilizadas na substituição de vasos sanguíneos de pequeno diâmetro, e que ao mesmo tempo seja acessível as limitações econômicas e tecnológicas do nosso meio.

## 2. OBJETIVOS

O objetivo principal deste estudo é pesquisar uma bioprótese que possa ser utilizada como substituto vascular em humanos e o método de conservação da mesma, seguindo assim, uma linha de pesquisa que já vinha sendo desenvolvida no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental.

O substituto vascular proposto é a veia safena humana, tratada com glutaraldeído, utilizando um modelo experimental em cães da raça Beagle.

Pretende-se, além disso, observar as alterações histológicas sofridas pela veia safena humana após o preparo com glutaraldeído e a implantação em animais de experimentação.

Através deste estudo, pretende-se viabilizar a criação de um *Banco de Biopróteses* em nosso laboratório para utilização na clínica humana.

### 3. MÉTODO

#### 3.1. ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

##### 3.1.1. Amostra

Para a realização do experimento foram utilizados 10 cães da raça Beagle, com idade média de dois anos, todos fêmeas, pesando em torno de  $17 \pm 4$  Kg. Estes animais eram provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina e receberam alimentação própria para a espécie, com acesso livre à dieta e água durante todo o experimento.

As biopróteses utilizadas, veias safena humana, foram obtidas mediante a colaboração do Serviço de Cirurgia Vascular do Hospital Regional de São José Homero de Miranda Gomes e do Serviço de Cirurgia Cardíaca do Instituto de Cardiologia. Durante o período de realização deste trabalho, um dos pesquisadores mantinha contato permanente com os Serviços previamente mencionados. Ao final de cada cirurgia de revascularização, os segmentos de veia safena, que por ventura não eram utilizados no ato operatório, foram colocados em frascos apropriados contendo glutaraldeído.

#### 3.2. PREPARAÇÃO DAS PRÓTESES

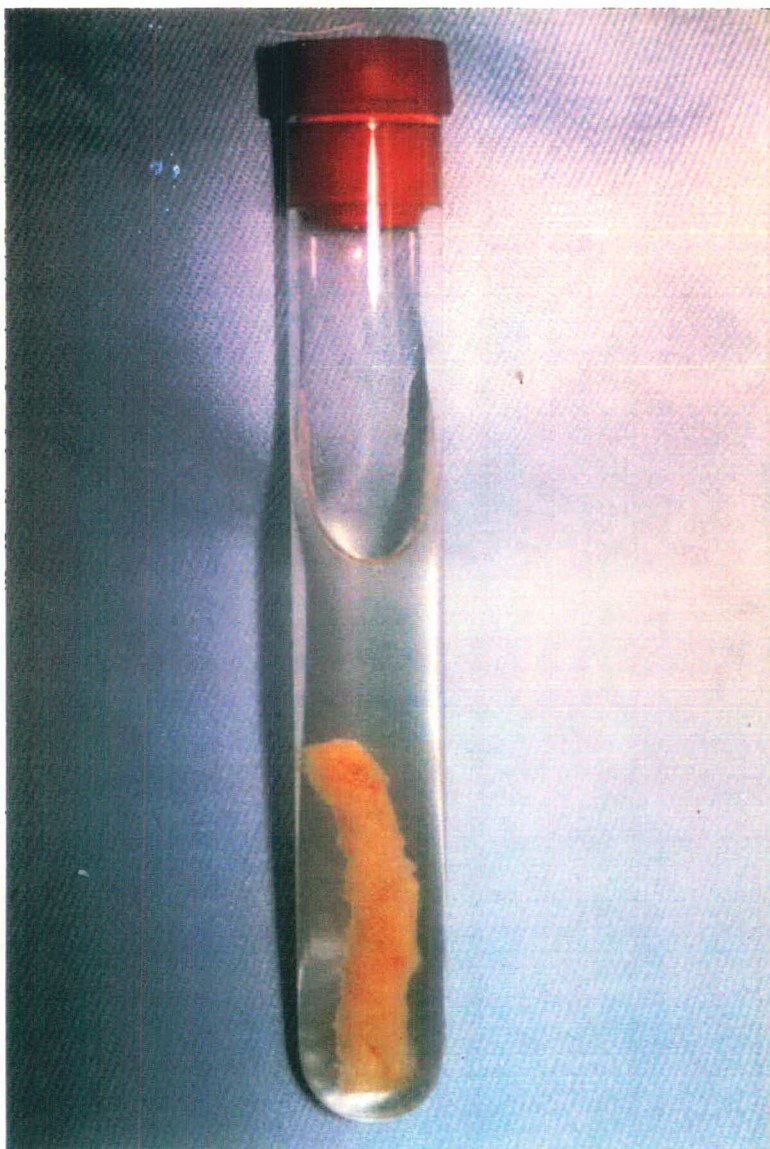
Após a obtenção da veia safena, esta foi tratada segundo o método de preparação de enxertos heterólogos, descrito por DARDIK e DARDIK<sup>12</sup> (1976), com algumas modificações propostas por ROBERTS<sup>34</sup> (1989).

A veia era colocada em um recipiente cilíndrico onde permanecia embebida em solução de glutaraldeído a 0,5%, mantido em pH de 7,4 por tampão de fosfato dihidrogênizado de potássio e bicarbonato de sódio, em temperatura ambiente por 72 horas, com a troca da solução a cada 24 horas.

Ao final da preparação com o glutaraldeído, as veias eram lavadas com solução salina a 0,9% durante trinta minutos.

Depois, os segmentos de veia safena permaneciam embebidos em Peróxido de Hidrogênio (10 volumes) por mais 24 horas. Esta solução tem a função de remover o glutaraldeído residual e os elementos do sangue.

Após estas etapas, as veias eram estocadas em álcool a 40% por período não inferior a 4 e não superior a 21 dias (figura 1).



**Fig.1 - Veia safena humana após o preparo com glutaraldeído 0,5% e conservada em álcool 40%**

No momento da cirurgia as veias eram embebidas em solução salina heparinizada (100 ml de soro fisiológico e 1 ml ou 5000 unidades de heparina sódica) durante 15 minutos.

### 3.3. Grupos de Animais

Os animais foram distribuídos em 2 grupos de 05 animais, denominados A e B.

Grupo A: Estes animais receberam a bioprótese na artéria femoral superficial esquerda.

Grupo B: Nestes animais a bioprótese foi interposta na carótida comum esquerda.

### 3.4. Anestesia

Dez minutos antes da indução anestésica, todos os animais receberam 500 mg de Sulfato de Atropina por via subcutânea.

No grupo A, a anestesia foi executada através de indução com 01 ml de Xilasina

(Rompun<sup>®</sup>) via intra-muscular e manutenção com infusão endovenosa de Pentobarbital Sódico 3% (Hypnol<sup>®</sup>) e Halotano<sup>®</sup> por via inalatória através de tubo oro-traqueal.

No grupo B, a anestesia foi realizada através de indução com Xilasina (Rompun<sup>®</sup>) e Cloridrato de Cetamina (Ketalar<sup>®</sup>) via intra-muscular e manutenção com Pentobarbital Sódico 3% (Hypnol<sup>®</sup>), sendo o animal mantido sob intubação oro-traqueal durante todo o procedimento.

### 3.5. Técnica Cirúrgica

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados em condições de antisepsia no Laboratório da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da Universidade Federal de Santa Catarina.

Todos os animais foram identificados através de numeração e pesados antes da realização de qualquer procedimento e, as cirurgias só tiveram início após a perda do reflexo córneo-palpebral e perda da reação motora.

Foram utilizadas duas abordagens cirúrgicas.

Nos 05 animais do grupo A, a prótese de aproximadamente 3 cm de comprimento, foi interposta na artéria femoral superficial esquerda (figura 2). Esta foi abordada através de uma incisão paralela à borda medial do músculo sartório. Isolou-se um segmento de cerca de 5 cm da referida artéria entre dois clamps vasculares tipo *Bulldog*. Realizou-se uma arteriotomia longitudinal e antes da execução das anastomoses, injetou-se nos cotos proximal e distal da artéria, solução contendo 01 ml de heparina para 100 ml de soro fisiológico. As anastomoses foram término-terminais com sutura contínua com fio de polipropileno 7/0.

Nos animais do grupo B, a prótese foi interposta na carótida comum esquerda (figura 3). Esta foi abordada através de uma incisão longitudinal cervical esquerda, respeitando os planos anatômicos do pescoço. A mesma técnica cirúrgica vascular foi utilizada, sendo interposto um segmento de veia safena de aproximadamente 3 cm.

Todos os animais receberam antibiótico profilático (500 mg de cefazolina) 30 minutos antes do início do ato operatório por via endovenosa. Do mesmo modo, logo após o término da cirurgia, administrou-se 2 ml de dipirona.

Após a recuperação da anestesia, os animais foram levados ao Biotério Central, onde foram acompanhados pelo veterinário deste setor e por pesquisadores do grupo responsável por este trabalho.



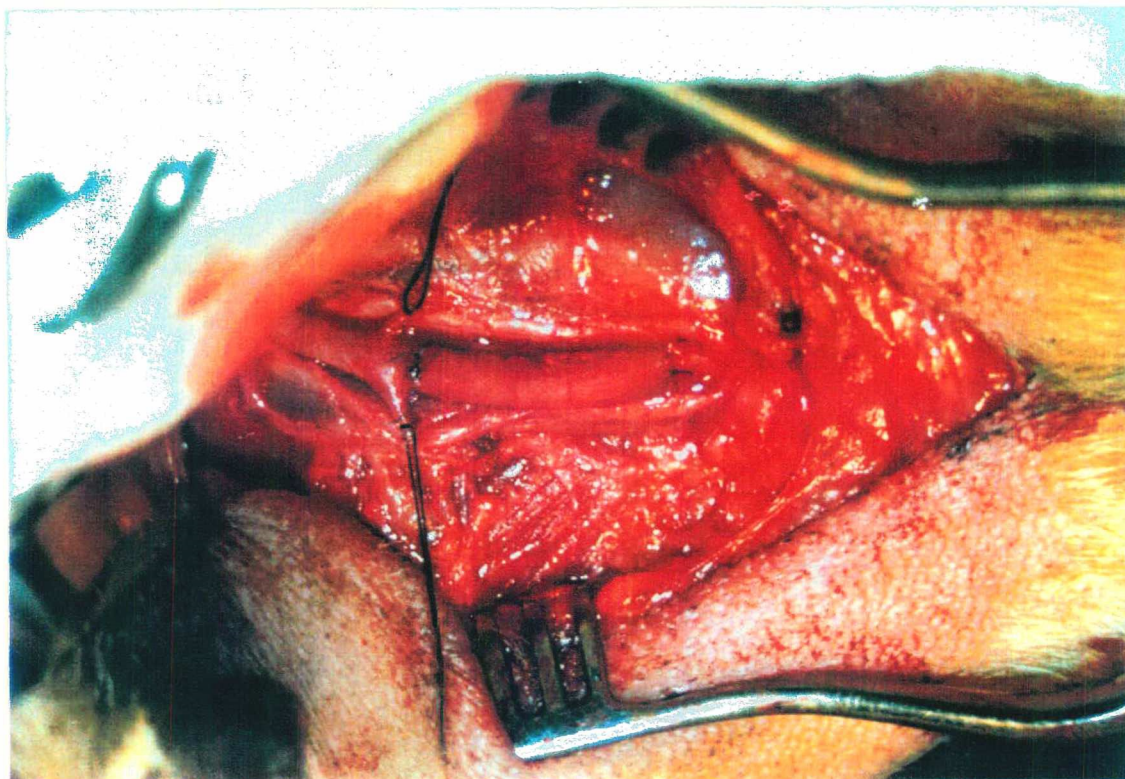


Fig.2 - Vista do campo operatório com a bioprótese (veia safena humana preservada em glutaraldeído) implantada em artéria femoral do cão

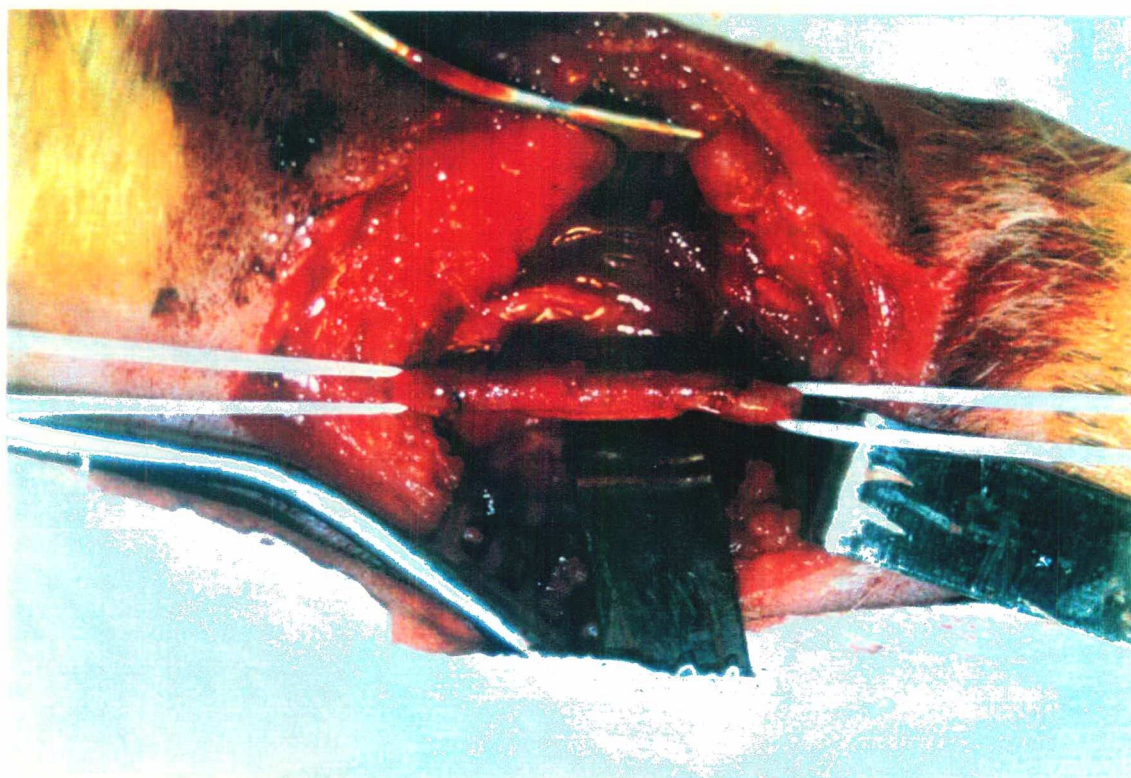


Fig.3 - Segmento de veia safena preservada em glutaraldeído interposta em carótida comum do cão

### 3.6. Protocolo de Acompanhamento

#### 3.6.1. Estudo Arteriográfico

Os estudos arteriográficos foram executados nas instalações do Serviço de Hemodinâmica do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina.

Foram realizadas angiografias de controle em todos os animais do grupo A e em 02 animais do grupo B, 90 dias após a cirurgia.

Os animais receberam antes da indução anestésica 500 mg Sulfato de Atropina por via subcutânea. A indução foi realizada com 01 ml de Xilasina (Ropum<sup>®</sup>) e Cloridrato de Cetamina (Ketalar<sup>®</sup>) intra-muscular. A manutenção foi feita com Pentobarbital Sódico 3% (Hypnol<sup>®</sup>) endovenoso.

Utilizou-se a técnica de Seldinger em todos os animais. No grupo A a via de acesso foi a artéria femoral direita e nos 02 animais do grupo B foi a artéria braquial direita.

Para a visualização radiológica utilizou-se contraste iodado de baixa osmolalidade (Hexabrix 320<sup>®</sup>).

Todos os animais receberam antibiótico profilático (500 mg de Cefazolina) 30 minutos antes do início do estudo arteriográfico e analgésico (2ml de Dipirona) após o término, ambos por via endovenosa.

#### 3.6.2. Estudo Histológico

Para avaliar as possíveis alterações histológicas do material em análise, realizou-se estudo por microscopia óptica após fixação em formol a 10%, inclusão em parafina e coloração com Hematoxilina e Eosina.

Inicialmente, realizou-se estudo histológico da veia safena antes do processo de conservação com glutaraldeído, funcionando este grupo como controle.

A veia safena preservada em glutaraldeído foi analisada histologicamente no 4<sup>o</sup>, 12<sup>o</sup> e 21<sup>o</sup> dias de conservação.

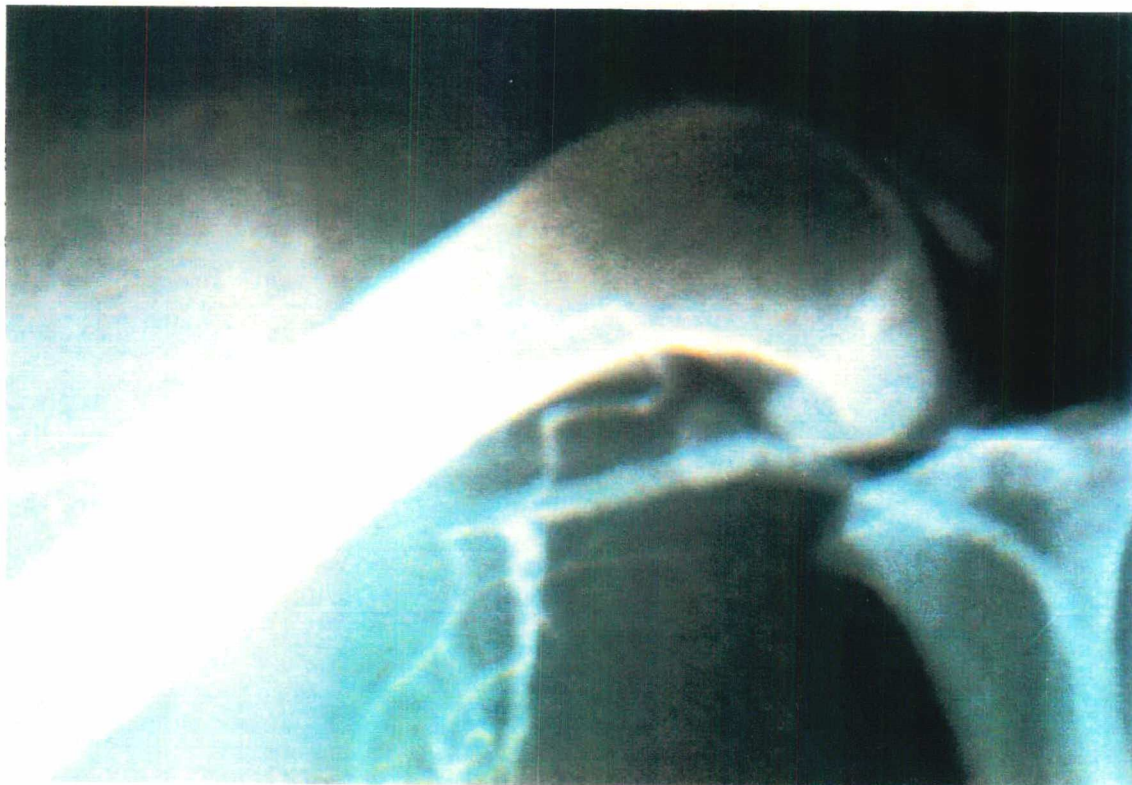
Em seguida a realização do estudo angiográfico, executado 90 dias após a implantação da bioprótese, realizou-se a retirada deste material, englobando ambas anastomoses, para o estudo histológico. Os cotos da artéria femoral foram ligados.

O estudo histológico foi executado pelo Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina.



## 4. RESULTADOS

Nos cães em que o enxerto foi interposto na artéria femoral superficial (grupo A), o estudo arteriográfico realizado 90 dias após a implantação das biopróteses demonstrou oclusão das mesmas (figura 4).



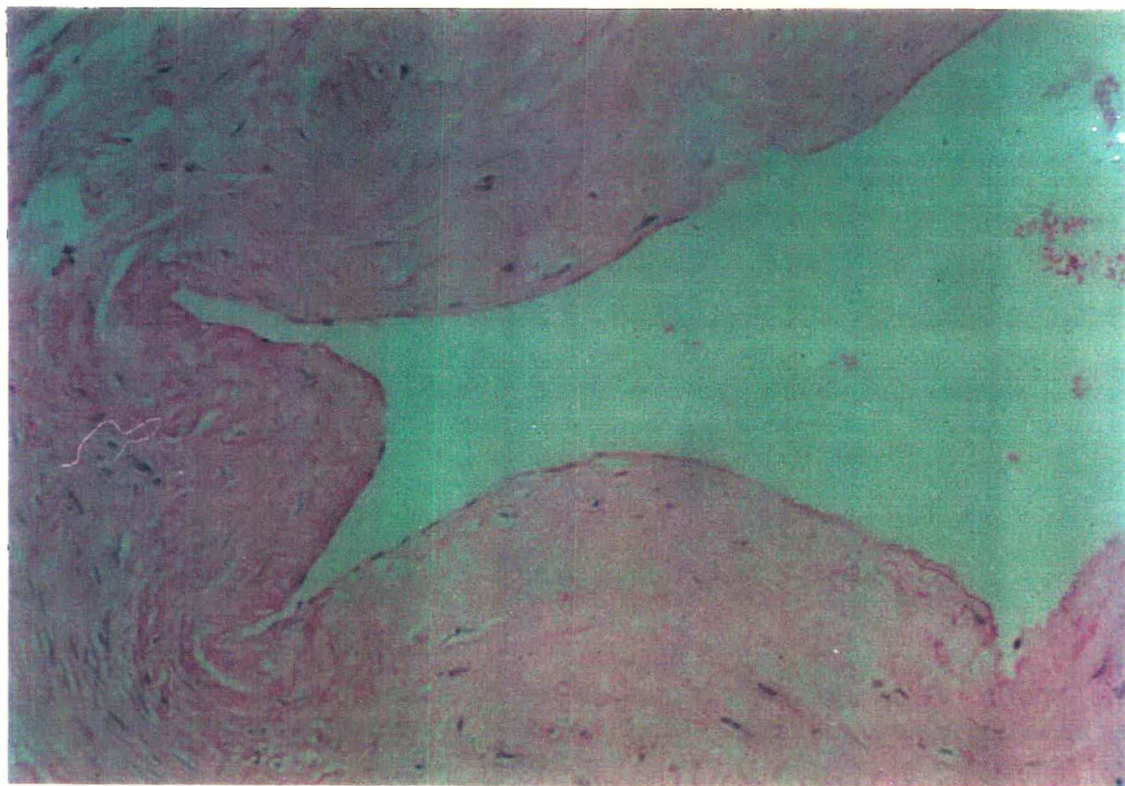
**Fig.4 - Arteriografia evidenciando oclusão da artéria femoral superficial do cão, devido a trombose do enxerto, com reenchimento distal por circulação colateral**

Os 02 cães do grupo B, que foram submetidos a angiografia, também apresentaram oclusão das biopróteses implantadas.

Durante o experimento não ocorreram óbitos e não foi constatado sinais clínicos que pudessem indicar a trombose dos enxertos.

Na análise da veia safena, antes do método de conservação com glutaraldeído, observou-se estrutura constituída por túnica íntima formada por epitélio pavimentoso simples (endotélio) repousando sobre fina camada de tecido conjuntivo. A túnica média era constituída por fibras musculares lisas arranjadas circularmente e misturadas a tecido conjuntivo. Mais externamente encontrou-se a túnica adventícia, que era mais espessa e composta por tecido conjuntivo frouxo que continha feixes de fibras colágenas e redes elásticas (figura 5).

Macroscopicamente, após a preparação com glutaraldeído e conservação com álcool 40%, a veia apresentada superfície interna lisa e tamanho e diâmetro iniciais. A única alteração observada após o preparo foi uma discreta perda da elasticidade da veia.



**Fig.5 - Corte histológico de veia safena humana, antes do preparo com glutaraldeído, mostrando a luz do vaso, túnica íntima com epitélio pavimentoso simples (endotélio) e túnicas média e adventícia. (H.E. - 200x)**

Os cortes histológicos das veias safenas com 04 , 12 e 21 dias de conservação não mostraram alterações significativas, ou seja, as camadas do enxerto permaneciam com sua estrutura preservada (figura 6).

Ao retirar as biopróteses, 90 dias após a implantação, estas estavam firmemente aderidas aos tecidos que as envolviam e continham trombo no seu interior. Não foram encontrados sinais de rejeição, biodegradação ou dilatações aneurismáticas.

No estudo histológico, após a retirada do enxerto, observou-se áreas com perda do endotélio, tendo aderido a superfície interna, massa ocluindo parcialmente a luz, constituída por rede de fibrina, leucócitos, hemácias e plaquetas, configurando um trombo (figuras 7 e 8). No interior do trombo encontraram-se áreas de organização caracterizadas por neovascularização (canalização do trombo). A camada média da veia permaneceu inalterada e na adventícia encontrou-se infiltrado inflamatório crônico, formado basicamente por linfócitos, histiócitos e plasmócitos.



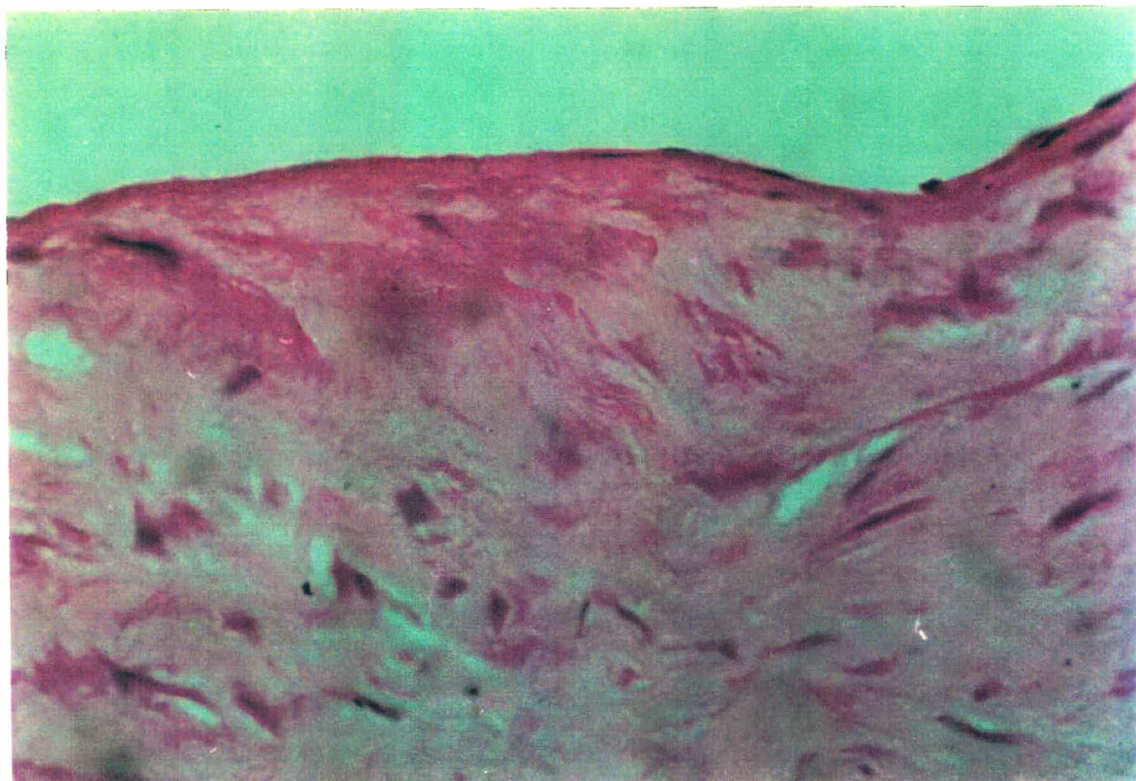


Fig.6 - Corte histológico de veia safena, após o preparo com glutaraldeído e conservada 21 dias com álcool 40%, demonstrando ausência de alterações morfológicas significativas. (H.E. - 400x)

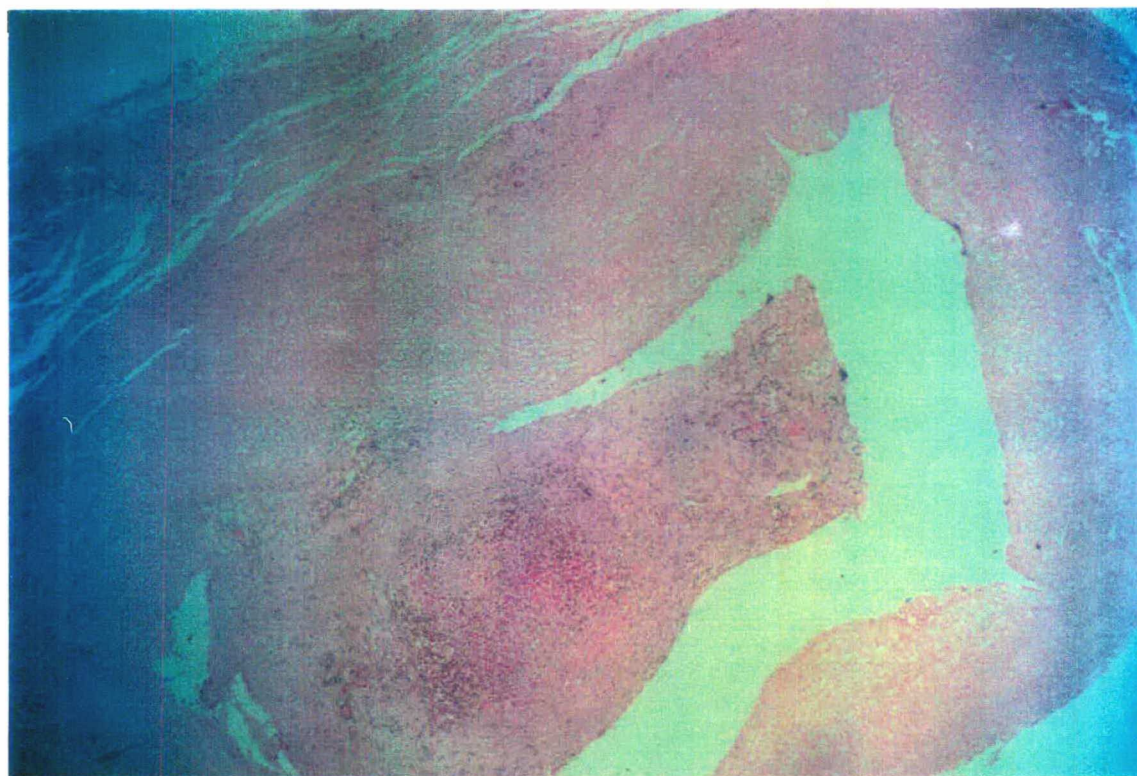


Fig.7 - Corte histológico da bioprótese retirada 90 dias após a implantação, evidenciando a luz do enxerto parcialmente ocluída por uma massa amorfa aderida a parede, configurando um trombo. (H.E. - 40x)



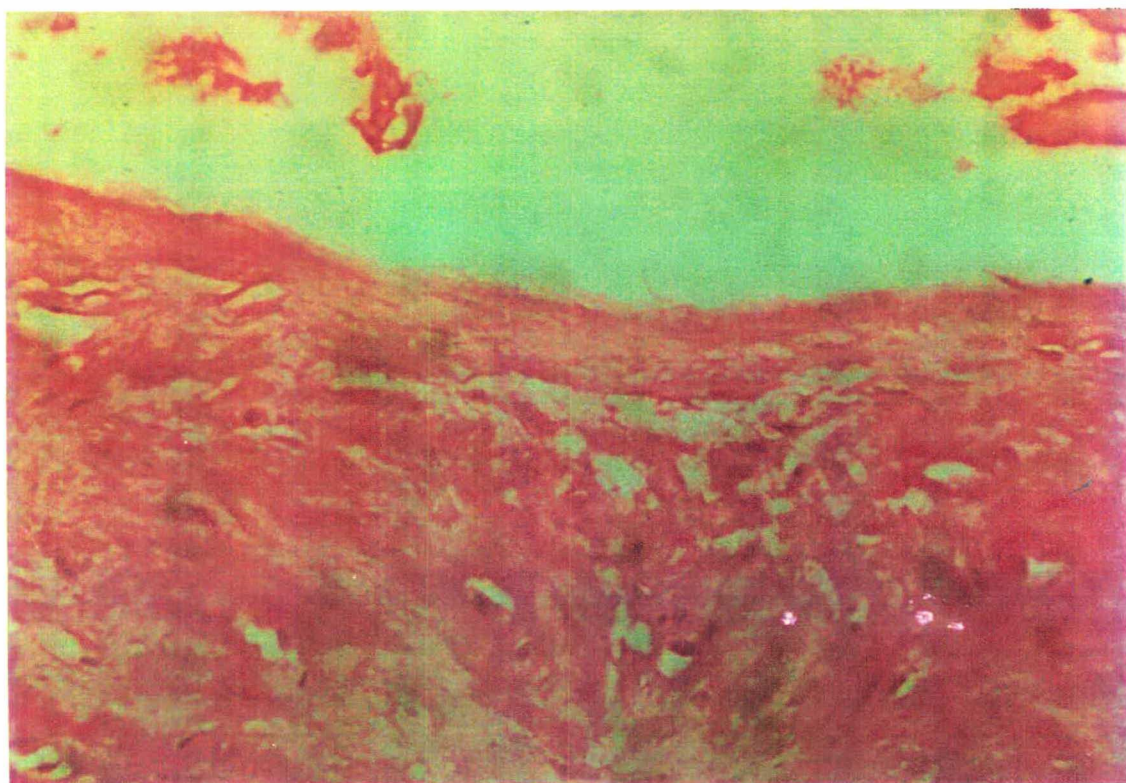


Fig.8 - Corte histológico de veia safena retirada 90 dias após o implante, mostrando irregularidade do epitélio pavimentoso simples (lesão endotelial). (H.E. - 400x)

## 5. DISCUSSÃO

A amputação de membros inferiores isquêmicos, devido a trombose da artéria femoral superficial e poplítea, pode ser evitada, em aproximadamente 60% dos pacientes, quando a veia safena autóloga pode ser utilizada para restauração do fluxo sanguíneo<sup>14,42</sup>. Contudo, um número considerável destes pacientes não possui veia safena ou ela não é adequada para o ato cirúrgico, sendo então, a amputação, muitas vezes inevitável. Muitos desses segmentos seriam recuperáveis, com a presença de substituto vascular adequado.

Os vários materiais desenvolvidos para substituir a veia safena autóloga, como as próteses sintéticas de Dacron® e Politetrafluoroetileno®, artéria carótida bovina modificada e enxerto autólogo reforçado com Dacron®, apenas conseguiram moderado sucesso quando a anastomose distal é abaixo da artéria poplítea<sup>3,9,35</sup>. Apresentam ainda, como desvantagens, o alto custo e a intolerância à infecção.

Por todos estes motivos, continua sendo importante à procura de substitutos vasculares que ofereçam uma alternativa aos materiais disponíveis na atualidade, principalmente quando se refere ao setor distal dos membros inferiores.

O glutaraldeído foi utilizado inicialmente como agente antimicrobiano e há algum tempo já é empregado pela indústria e patologistas com a finalidade de reduzir a biodegradação e fixar tecidos<sup>2,29,47</sup>.

Ao ser empregado na preparação de enxertos biológicos, o glutaraldeído estabelece pontes de ligação entre as moléculas colágenas, aumentando assim a resistência do material e provocando histocompatibilidade, tendendo com isso a bloquear a antigenicidade<sup>1,4,11,15,24,32,39</sup>.

Ele pode penetrar em espaços pequenos e efetuar inúmeras pontes de ligação em uma única área. Esta mesma propriedade, contudo, faz com que seja mais difícil para retirá-lo ou neutralizá-lo antes da implantação do enxerto<sup>11</sup>.

A principal desvantagem do glutaraldeído é a sua toxicidade<sup>15,32</sup>. Sendo esta evidente quando válvulas cardíacas porcinas tratadas com glutaraldeído, para aumentar a sua estabilidade e remover a antigenicidade, são implantadas sem o suficiente cuidado de remover o excesso deste reagente, através de lavagem do material<sup>15</sup>. Estudos que têm detectado este problema indicam que os efeitos do glutaraldeído residual podem ser encontrados em tecidos animais ao longo de 06 meses após a implantação de esponjas colágenas tratadas com glutaraldeído<sup>41</sup>.

Os estudos arteriográficos realizados nos 07 animais, 05 do grupo A e 02 do grupo B, demonstraram oclusão dos enxertos, embora todos os animais tenham evoluído sem complicações.

Alguns autores atribuem a obstrução precoce dos enxertos à toxicidade do glutaraldeído e à permanência deste produto após a lavagem do material a ser implantado<sup>11,15,32,41</sup>.

ROBERTS<sup>34</sup>, utilizando idêntico método de preparo, refere que a trombose em enxertos autógenos é causada, principalmente, pelo processo de conservação dos mesmos. Assim, o próprio método de preparo com glutaraldeído seria a causa da oclusão. Seus estudos com enxertos heterólogos apresentaram uma perviedade de 75% em 04 semanas. Tais resultados, embora com o mesmo método, não podem ser comparados com o nosso estudo, já que o tempo de avaliação da perviedade e o material utilizado são diferentes.

Segundo GENDLER *et al*<sup>15</sup>, a menor toxicidade dos tecidos tratados com glutaraldeído e lavados com soro fisiológico é obtida quando esta lavagem é executada durante 60 minutos, com troca da solução salina a cada 20 minutos. No entanto, mesmo neste grupo, uma toxicidade residual foi demonstrada através de uma diminuição da proliferação celular na cultura de células, quando comparadas com o grupo controle. Os mesmos autores comprovaram que lavagem com solução de glicina reduz a toxicidade, pois esta possui grupos aminas livres, que formam complexos com os aldeídos livres em excesso.

MARQUES *et al*<sup>29</sup>, preconizam que a peça a ser implantada, deve ser lavada em solução fisiológica abundante em pelo menos 02 banhos de 10 minutos cada um, visando com isto rehidratar o tecido, devolvendo-lhe as características de maleabilidade e evitando a chegada de substância lesiva aos tecidos vivos.

Outra hipótese para a trombose dos enxertos é a redução incompleta da antigenicidade, embora os estudos histológicos não tenham evidenciado sinais que pudessem ser sugestivos de rejeição, como a necrose da parede do enxerto, que foi observada por ROBERTS<sup>34</sup> em enxertos heterólogos não tratados.

Alguns autores acreditam que o glutaraldeído reduz, mas não aboli, a antigenicidade dos tecidos tratados<sup>30,34,38</sup>.

PERLOFF<sup>33</sup>, através de estudo experimental com veia cava inferior de ratos tratadas com glutaraldeído, concluiu que não houve redução completa da antigenicidade e sugere que algum método de imunossupressão seja utilizado em ensaios clínicos, onde a veia safena autógena não pode ser empregada.

Uma incompleta fixação com glutaraldeído da estrutura colágena pode levar a biodegradação, manutenção da antigenicidade e diminuição da resistência do material<sup>6,47</sup>.

Segundo DARDIK<sup>12</sup>, problemas técnicos podem ser a causa da trombose precoce. Neste estudo, esta hipótese é menos provável, já que todos os enxertos apresentavam bom fluxo ao término da anastomose distal.

No presente estudo, as veias retiradas 90 dias após a implantação, apresentaram à microscopia óptica, áreas com perda do endotélio. De acordo com SOTTIURAI<sup>40</sup>, a cobertura da superfície interna da prótese, por células endoteliais do hospedeiro, não é necessária para a perviedade do enxerto, já que pequena quantidade de células endoteliais foi encontrada em enxertos sintéticos prévios.

As veias safenas tratadas com glutaraldeído, no estudo de HARJULA<sup>22</sup>, antes da implantação, apresentavam desaparecimento do endotélio e mesmo assim, se mantinham prévias. Segundo este autor, o glutaraldeído impede o desenvolvimento de revestimento endotelial nas veias safenas e umbilicais tratadas.

Este mesmo autor<sup>20</sup>, ao implantar 24 enxertos de veia safena humana, conservada em glutaraldeído 0,2% por 48 horas, em cães de rua, observou que apenas 05 estavam prévios ao final de 90 dias.

Os trabalhos utilizando veia umbilical humana conservada em glutaraldeído, quando a perviedade é analisada, apresentam resultados bem mais satisfatórios, ainda que os métodos apresentem algumas diferenças entre si<sup>10,12,27,39,44,45,46</sup>.

Neste trabalho, a veia safena humana conservada em glutaraldeído, não apresentou bons resultados com relação a perviedade. Talvez seja necessário modificar a técnica de fixação e lavagem, para reduzir, com eficiência, a antigenicidade e os níveis de glutaraldeído residual e melhorar a perviedade da veia safena tratada com glutaraldeído.

## **6. CONCLUSÕES**

Ao término deste trabalho podemos concluir que o método de preservação com glutaraldeído não provocou alterações histológicas significativas na veia safena e que esta demonstrou não ser um bom substituto vascular, devido ao alto índice de oclusões registrado.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AXTHELM, S.C.; PORTER, J.M.; STRICKLAND, S.; et al. - Antigenicity of venous allografts. *Ann. Surg.*, 189:290-3, 1979.
2. BORICK, P.M.; DONDERSHINE, F.H.; CHANDLER, V.L. - Alkalinized glutaraldehyde, a new antimicrobial agent. *J. Pharm. Sci.*, 53:1273-75, 1964.
3. CAMPBELL, C.D.; BROOKS, D.H.; WEBSTER, M.W.; et al. - The use of expanded microporous polytetrafluorethylene for limb salvage: a preliminary report. *Surg*, 79: 485, 1976.
4. CARPENTIER, A.; DELOCHE, A.; RELLAND, J.; et al. - Six-year follow-up of congenital valve malformations. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 68:771-82, 1974.
5. CARREL, A. - Résultats éloignés de la transplantation des veines sur les artères. *Rev. Chir.*, 41:987, 1910.
6. CHEUNG, D.T.; NIMNI, M.E. - Mechanism of tissue fixation by glutaraldehyde. *Trans. Soc. Biomaterials*, 7:30-5, 1984.
7. COLEMAN, C.C.JR.; DETERLING, R.A.JR.; PARSHLEY, M. S. - Some long term observations on aortic homografts. *Surg.*, 37:64, 1955.
8. COOLEY, D.A.; DEBAKEY, M.E. - Successful resection of aneurysm of the thoracic aorta and replacement by graft. *JAMA*, 152:673, 1953.
9. CRAWFORD, E. S.; DEBAKEY, M. E.; COOLEY, D. A. - Clinical use of synthetic arterial substitutes in three hundred seventeen patients. *Arch. Surg*, 76:261, 1958
10. DARDIK, H.; IBRAHIM, I.M.; JARRAH, M.; et al. - Three-year experience with glutaraldehyde-stabilized umbilical vein for limb salvage. *Br. J. Surg.*, 67:229-32, 1980.
11. DARDIK, H.; IBRAHIM, I.M.; SEYMOUR, S. - Clinical experience with modified human umbilical cord vein for arterial bypass. *Surg.*, 79:618-24, 1976.
12. DARDIK, I.I.; DARDIK, H. - Vascular prostheses and process for producing the same. *United States Patent*, n3.974.526, 1976.

13. DEBAKEY, M.E.; CREECH, D.; COOLEY, D.A. - Oclusive disease of the aorta and its treatment by resection and homograft replacement. *Ann. Surg.*, 140:290, 1954.
14. GARRET, H.E.; KOTCH, P.I.; DEBAKEY, M.E.; et al. - Distal tibial artery bypass with autogenous vein grafts: an analysis of 56 cases. *Surg.*, 63:90, 1968
15. GENDLER, E.; GENDLER, S.; NIMNI, M.E. - Toxic reactions evoked by glutaraldehyde-fixed pericardium and cardiac valve tissue bioprosthesis. *J. Biomed. Mat. Research*, 18:727-36, 1984.
16. GOLDMAN, M.; GUNSON, B.; HAWKER, R.J.; et al. - Human umbilical vein and polytetrafluorethylene arterial grafts compared in an artificial circulation. *Br. J. Surg.*, 70:4-6, 1983.
17. GROSS, R.E.; BILL, A.H.JR.; PIERCE, E.C. - Methods of preservation and transplantation of arterial grafts: observations on arterial grafts in dogs: report of transplantation of preserved arterial grafts in 9 human cases. *Surg. Gynec. Oibst.*, 88:689-701, 1949.
18. GROSS, R.E.; HUWITT, E.S.; BILL, A.H.JR. - Preliminary observations on the use of human arterial grafts in the treatment of certain cardiovascular defects. *New Engl. J. Med.*, 239:578, 1948.
20. HARJULA, A. - Glutaraldehyde pre-treated human saphenous and umbilical veins as xenogeneic small vessel substitutes and shunts in dogs. *Ann. Chir. Gynaecol.*, 70:11-7, 1981.
21. HARJULA, A. ; MATTILA, S. - The effect of glutaraldehyde-tanning on the elasticity of the human saphenous vein. *Ann. Chir. Gynaecol.*, 69:60-4, 1980.
22. HARJULA, A.; MYLLARNIEMI, H.; NICKELS, J.; et al. - Morphological study of flow surface of glutaraldehyde pre-treated vascular substitutes. *Ann. Chir. Gynaecol.*, 69:144-50, 1980.
23. HOPFNER, E. - Ueber gefassnaht, gefasstransplantationen und replantation von amputatierten extremitaten. *Arch. F. Klin. Chir.*, 40:417-71, 1903.

24. KAPLAN, S.; WU, H.; SAUVAGE, L.R.; et al. - Glutaraldehyde preparation of coronary artery bypass bioprotheses. *J. Surgic. Research*, 38:45-54, 1985.
25. KEMPEZINSKI, R.F. - Vascular Grafts. In: RUTHERFORD, R.B. *Vascular Surgery*. 3.ed. Philadelphia, WB Saunders Company, 1988. v.1, p.404-7.
26. KIMOTO, S.; SUGIE, S.; TSUNODA, M. - Experimental and clinical studies on arterial homo- and heterografts preserved in alcohol. *Arch. Surg*, 69:549, 1954.
27. KLIMACH, O.; CHARLESWORT, D. - Femorotibial bypass for limb salvage using human umbilical vein. *Br. J. Surg.*, 70:1-3, 1983.
28. MARRAMA, M.; LOSON, R.; LOSANO, S.; et al. - Puentes con vena safena humana conservada: una alternativa de revascularizacin. *Rev. Argent. Cir.*, 63:167-70, 1992.
29. MARQUES, A.; BRENDA, E.; GOMES, H.C.; et al. - Glutaraldeído e formaldeído na fixação e armazenamento de tecidos preservados. *Acta Cir. Bras.*, 7:77-9, 1992.
30. MATTILA, S.P.; FOGARTY, T.J. - Antigenicity of vascular heterografts. *J. Surg. Res.*, 15:81, 1973.
31. MEHDORN, H.M.; TOWNSEND, J.J.; WEINSTEIN, P.R.; et al. - Endothelialization of a new arterial microvascular graft material. *Scanning electron microscopy*, 3:851-5, 1979.
32. OLIVER, R.F.; GRANT, R.A.; COX, R.W.; et al. - Effect of aldehyde cross-linking on human dermal collagen implants in the rat. *Br. J. Exp. Path.*, 61:544-9, 1980.
33. PERLOFF, L.J.; ROWLANDS, D.T.JR.; BARKER, C.F. - Studies of the modified venous allograft. *Ann. Surg.*, 186:227-32, 1977.
34. ROBERTS, A.H.N.; WEE, J.T.K.; NIGHTINGALE, G.; et al. - Glutaraldehyde-tanned microvascular grafts. *Br. J. Plast. Surg.*, 42:429-34, 1989.
35. ROSENBERG, D.M.L.; GLASS, B.A.; ROSENBERG, N.; et al. - Experiences with modified bovine carotid arteries in arterial surgery. *Surg.*, 68:1064, 1970.
36. ROSENBERG, N.; GAUGHRAN, E.R.L.; et al. - The use of segmental arterial implants prepared by enzymatic modification of heterologous blood vessels. *Forum Surg*, 6:242, 1956.

37. ROSEMBERG, N.; HENDERSON, J.; LORD, G.; et al. - The use of enzyme treated heterografts as segmental arterial substitutes. IV. Follow-up observations on five-year-old implants. *Arch. Surg.*, 83:950, 1961.
38. SAWYER, P.N.; STANCZEWSKI, B.; KIRSCHENBAUM, D. - The development of polymeric cardiovascular collagen prostheses. *Artif. Organs*, 1(2):83, 1977.
39. SHEIL, A.G.R.; STEPHEN, M.S.; BOULAS, J.; et al. - Small arterial reconstruction using modified cadaveric saphenous veins. *Am. J. Surg.*, 134: 591-5, 1977.
40. SOTTIURAI, V. S.; YAO, J.S.T.; FLINN, W. R.; et al. - Intimal hyperplasia and neointima: an ultrastructural analysis of thrombosed grafts in humans. *Surg.*, 96:809-17, 1983.
41. SPEER, D.P.; CHVAPIL, M.; VOLZ, R.G.; et al. - Enhancement of healing in osteochondral defects by collagen sponge implants. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 144:326-35, 1979.
42. STEPHEN, M.; LOEWENTHAL, J.; LITTLE, J.M.; et al. - Tibial artery bypass. *Arch. Surg.*, 3:235, 1976.
43. SZILAGYI, D.E.; MCDONALD, R.T.; SMITH, R.F.; et al. - Biologic fate of human arterial homografts. *Arch. Surg.*, 75:506, 1957.
44. XU, K. ; CHEN, W. - Grafting of autogenous jugular vein and glutaraldehyde stabilized human umbilical vein in dogs. *Chung Hua I Hsueh Tsa Chih*, 73:415-5, 447, 1993.
45. WAGNER, W.; ZIEGER, M.; BARTEL, M.; et al. - Comparative experimental animal studies for testing the usefulness of formalin - and glutaraldehyde - pretreated umbilical cord veins as artery replacements. *Z. Exp. Chir. Transplant Kunstliche Organe*, 23:102-9, 1990.
46. WENG, Z.C.; CHENG, K.K.; LAI, S.T.; et al. - Experimental implantation of human umbilical vein grafts in dogs. *J. Formosan. Med. Assoc.*, 89:171-6, 1990.
47. WIEBE, D.; MEGERMAN, J.; LITALIEN, G.J.; et al. - Glutaraldehyde release from vascular prostheses of biologic origin. *Surg.*, 104:26-33, 1988.

**TCC  
UFSC  
CC  
0317**

**Ex.1**

N.Cham. TCC UFSC CC 0317

Autor: Candemil, Patrick

Título: Estudo da veia safena preservada



972813145

Ac. 253139

Ex.1 UFSC BSCCSM